

## Histochemische Untersuchungen während der Wallerschen Degeneration bei C3H/An und C57bl-Mäusen

Bei experimentellen Untersuchungen des Markscheidenabbaus während der Wallerschen Degeneration wurde eine starke Aktivitätssteigerung verschiedener Hydrolasen festgestellt. Ihnen wird deshalb eine Beteiligung am Markscheidenabbau zugeschrieben<sup>1,2</sup>.

Wir untersuchten den Ablauf der Wallerschen Degeneration bei C3H- und C57bl-Mäusezuchttämmen. Die C3H-Mäuse besitzen auf Grund eines genetischen Defektes nur eine sehr geringe  $\beta$ -D-Glucuronidase-Aktivität. Es sollte geklärt werden, ob die Verschiedenheit des Enzymgehaltes bei den zwei Mäusestämmen einen Unterschied im Ablauf der Wallerschen Degeneration bewirkt. Ausser auf  $\beta$ -D-Glucuronidase und saure Phosphatase (Methoden nach HAYASHI<sup>3</sup>) wurden Parallelschnitte mit verschiedenen Methoden zur Lipiddarstellung (Sudanschwarz, Scharlachrot, Nilblauesulfat, Ovan)<sup>4</sup> untersucht. Die Tiere wurden 1 Tag bis 5 Monate nach Durchtrennung des rechten N. ischiadicus getötet. Danach wurden der proximale und der distale Stumpf davon entnommen, in  $\text{CO}_2$  eingefroren und im Kryostaten 7–9  $\mu$  dicke Schnitte angefertigt. Im linken, d.h. intakten Nerven der C3H-Mäuse liess sich  $\beta$ -Glucuronidase nicht nachweisen. Bei dem C57bl-Stamm ist im Zytoplasma der Schwannschen Zellen ein feingranuläres, rotes Reaktionsprodukt vorhanden. Die saure Phosphatasereaktion fällt bei beiden Tierarten etwa gleich aus.

Bereits 24 h nach Durchtrennung der Nerven zeigt sich sowohl am proximalen wie am distalen Stumpf eine deutliche Aktivitätssteigerung der sauren Phosphatase. Sie ist anfangs vorwiegend in den Axonen des Stumpfes nachweisbar. Nach 2 und 4 Tagen überwiegt jedoch die positive Enzymreaktion in den Schwannschen Zellen und in den sich vermehrenden Makrophagen des distalen Stumpfes. Es besteht eine enge Korrelation zwischen dem Zerfall der Markscheiden und der Aktivität der sauren Phosphatase. Dementsprechend sind die Veränderungen am proximalen Stumpf nur auf einen schmalen Bereich direkt an der Durchschneidungsstelle beschränkt. Unterschiede zwischen den beiden Tierstämmen sind nicht nachweisbar. Diese Aktivitätszunahme der sauren Phosphatase in den Schwannschen Zellen ist noch Monate nach der Nervendurchtrennung vorhanden.

Bei den C57bl-Mäusen zeigt die  $\beta$ -Glucuronidase ein ähnliches Verhalten, nur ist die histochemisch nachweisbare Aktivitätssteigerung nicht so auffallend wie bei der sauren Phosphatase. Sie ist auf Schwannsche Zellen und Makrophagen beschränkt und tritt ebenfalls immer an den Stellen besonders auffällig in Erscheinung, wo Mark-

scheidenfragmente abgebaut und phagozytiert werden. Diese Enzymvermehrung ist nachweisbar, solange noch Myelinreste zu beobachten sind.

Überraschend ist jedoch, dass auch bei C3H-Mäusen am proximalen Stumpf, nahe der Durchschneidungsstelle, und im gesamten distalen Segment Schwannsche Zellen und Makrophagen auftreten, in deren Zytoplasma  $\beta$ -Glucuronidase nachweisbar ist. Die Enzymreaktion fällt zwar schwächer aus als bei den C57bl-Mäusen, ist aber vom 4. bis 21. Tag nach Durchtrennung des Nerven in allen untersuchten Fällen vorhanden. Nach 3 Wochen sind kaum noch  $\beta$ -Glucuronidase-positive Zellen zu beobachten. Auch für die  $\beta$ -Glucuronidase ist charakteristisch, dass sie in den Zellen am stärksten reagiert, die am Abbau des Myelins beteiligt sind.

Betrachtet man den Markscheidenabbau mit den angegebenen Lipoidfärbungen, so lässt sich bei beiden Tierstämmen ein zeitlich normaler Ablauf erkennen. Das Marchi- und Scharlachrotstadium ist nach ca. 8 Tagen bzw. 3 Wochen erreicht.

Diese Befunde zeigen, dass auch bei C3H-Mäusen mit niedriger  $\beta$ -Glucuronidase-Aktivität der Markscheidenabbau normal verläuft. Auffallend ist, dass sich in den Schwannschen Zellen und Makrophagen während der Wallerschen Degeneration bei diesen Tieren  $\beta$ -Glucuronidase nachweisen lässt<sup>5</sup>.

**Summary.** The reduction of the myelin sheath during the Wallerian degeneration is not delayed in C3H/An mice with reduced activity of  $\beta$ -D-glucuronidase. After section of the sciatic nerve, an increase of glucuronidase activity in Schwann's cells and macrophages can be shown here too.

F. HANEFELD und T. WIECHMANN

Kinderklinik der Freien Universität Berlin,  
Auguste-Victoria-Haus, 1 Berlin 19 (Deutschland),  
24. Februar 1969.

<sup>1</sup> D. M. HOLLINGER und R. J. ROSSITER, Biochem. J. 52, 659 (1952).

<sup>2</sup> F. HANEFELD, Dt. Z. Nervenheilk. 188, 357 (1966).

<sup>3</sup> M. HAYASHI, Y. NAKAJIMA und W. H. FISHMAN, J. Histochem. Cytochem. 12, 293–298 (1964).

<sup>4</sup> T. BARKA und P. J. ANDERSON, *Histochemistry* (Hoeber Medical Division, New York 1963).

<sup>5</sup> Die Untersuchungen wurden mit freundlicher Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

## Carcinogenesis and Inhibited Biosynthesis of Soluble Mouse Skin Proteins by Actidione

The role of protein synthesis for the initiation of mouse skin by carcinogenic polycyclic hydrocarbons is still unknown. Puromycin, a common inhibitor of protein synthesis, failed to influence protein synthesis in mouse skin<sup>1,2</sup>. With actidione, however, we found that the synthesis of soluble skin proteins may be blocked. Actidione thus proved useful in learning whether protein synthesis was necessary for the initiation process.

Actidione produced no visible signs of intoxication at 0.1 mg/g mouse (NMRI). At 0.2 mg/g, however, 3 out of 10 mice died after 24 h. Mouse skin was isolated and prepared according to WIEST and HEIDELBERGER<sup>3</sup>. The tissue was powdered in liquid nitrogen, sonicated (20 sec)

in 1.15% KCl solution and centrifuged at  $2 \times 10^4$  g/0.1 ml aliquots of the supernatant were put on filter paper discs and counted by liquid scintillation counting<sup>4,5</sup>. Before counting protein-bound hydrocarbons, the disks were

<sup>1</sup> H. V. GELBOIN, M. KLEIN and R. R. BATES, Proc. natn. Acad. Sci. 53, 1353 (1965).

<sup>2</sup> H. BRESCHE and E. HECKER, personal communication (1967).

<sup>3</sup> W. G. WIEST and C. HEIDELBERGER, Cancer Res. 13, 246 (1953).

<sup>4</sup> R. J. MANS and G. D. NOVELLI, Arch. Biochem. Biophys. 94, 47 (1961).

<sup>5</sup> M. VOLM, R. SPIELHOFF and R. SÜSS, Naturwissenschaften 55, 390 (1968).